

ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

О. А. Ходос

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА И МОРФОЛИНИЙ 3-МЕТИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-5-ТИОАЦЕТАТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет

Проведено исследование влияния лекарственных средств этилметилгидроксипиридина сукцината и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетата на протеолиз и степень гидратации головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации. Интенсивность протеолиза исследовали спектрофотометрическим методом. Степень гидратации головного мозга определяли термogrавиметрически. Экспериментальная модель хронической алкогольной интоксикации предполагала предоставление животным свободного доступа к 15% раствору этанола в течение 29 недель. Предварительно животных разделяли по степени предпочтения к этанолу, в эксперименте использовали только крыс, предрасположенных к потреблению этанола. Показано, что хроническая алкогольная интоксикация приводит к нарушению протеиназо-ингибиторного баланса в центральной нервной системе, а также к увеличению содержания общей воды в больших полушариях головного мозга. Лекарственные средства этилметилгидроксипиридина сукцинат и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат способствуют нормализации протеолиза и степени гидратации больших полушарий головного мозга при хронической интоксикации этанолом.

Ключевые слова: этанол, этилметилгидроксипиридина сукцинат, морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, протеолитические ферменты, ингибиторы, степень гидратации, головной мозг.

ВВЕДЕНИЕ

Алкоголизм является не только биомедицинской, но и важной социальной проблемой во многих странах мира [1–4]. Чрезмерное потребление алкоголя приводит к поражению практически всех органов и систем. При этом головной мозг рассматривается как одна из основных мишеней этанола [5, 6]. Поиск лекарственных средств, применение которых способствовало бы коррекции нарушений, вызванных хронической алкогольной интоксикацией в центральной нервной системе, представляется актуальным.

Антиоксиданты используются в лечении широкого круга заболеваний, в том числе при интоксикациях этанолом. Этилметилгидроксипиридина сукцинат и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, являясь мощными антиоксидантами, способны защищать клетки от

токсичных радикальных реакций. Этилметилгидроксипиридина сукцинат относится к группе производных 3-оксипиридина [7–9]. Фармакологические эффекты этилметилгидроксипиридина сукцината при патологических состояниях обусловлены антиоксидантной активностью 3-оксипиридина и антигипоксическим свойством янтарной кислоты [10–12]. Антиоксидантная активность морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетата осуществляется посредством взаимодействия ядра триазола со свободными радикалами с образованием неактивных продуктов [13, 14]. С нормализацией процессов свободно-радикального окисления может быть также связано восстановление функционирования липидного слоя биологических мембран, ионных каналов, мембранно-связанных ферментов [10–12].

Целью данной работы было изучить влияние лекарственных средств этил-

метилгидроксипиридина сукцината и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата на протеолиз в центральной нервной системе, а также их воздействие на степень гидратации головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения экспериментов были использованы половозрелые самцы крыс линии Wistar средней массой 360 грамм. Исследования на половозрелых самцах предпочтительны, так как они не имеют гормональных колебаний, способных оказывать влияние на мембранотропное действие этанола [15]. Для экспериментов отбирали здоровых животных с чистым и гладким шерстным покровом. Содержали экспериментальных животных на полноценном нормированном рационе в стандартных условиях (виварий НИЛ УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»).

Предварительно проводили оценку чувствительности центральной нервной системы (ЦНС) животных к действию этанола. Известно, что предпочтение животными алкоголя или воды обусловлено генетически и отдельные особи различных линий крыс отличаются степенью алкогольной мотивации, а также чувствительностью ЦНС к воздействию этанола: животные, предпочитающие алкоголь, менее чувствительны к седативному эффекту этанола и более чувствительны к его стимулирующему действию [16]. Оценка суммарной активности этанол-метаболизирующих систем и распределение крыс на предрасположенных и не предрасположенных к этанолу выполнялась при помощи метода «этанолового наркоза»: в левый нижний квадрант брюшной полости, в продезинфицированный участок кожи животным выполняли внутрибрюшинную инъекцию 25% раствора этанола в дозе 4,5 г/кг массы тела [16, 17]. Длительность наркоза определяли по времени пребывания крыс в боковом положении от момента потери рефлекса переворачивания до восстановления данного рефлекса. Степень алкогольной мотивации животных находится в обратной зависимости от длительности «этанолового наркоза», что дает основание относить «короткоспящих» крыс к пред-

расположенным к потреблению алкоголя, тогда как «долгоспящих» – к не предрасположенным [16].

В модели хронической алкогольной интоксикации использовали только крыс, предрасположенных к потреблению этанола. Опытным группам экспериментальных животных был предоставлен свободный доступ к 15% раствору этанола [16]. В первые три недели эксперимента концентрацию растворов увеличивали от 5% до 15%. Для создания экспериментальной модели использовали 15% раствор спирта этилового, так как такая концентрация считается оптимальной и позволяет добиться добровольного потребления животными максимально больших доз этанола [16]. Данные об объеме потребленного в сутки раствора и результаты взвешивания животных использовали для расчета дозы этанола, которую выражали в граммах на килограмм массы тела. Животным, составлявшим контрольную группу, для питья предоставляли только водопроводную воду. Через 29 недель после начала эксперимента доступ животных к раствору этанола прекращали и заменяли его на водопроводную воду.

Введение лекарственных средств опытным группам животных осуществляли внутривенно (в хвостовую вену) в дозах: этилметилгидроксипиридина сукцинат – 10 мг/кг, морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетат – 50 мг/кг массы тела животного. Контрольным группам крыс внутривенно вводили физиологический раствор. Через 1, 3 и 7 суток после отмены доступа к этанолу животных выводили из эксперимента декапитацией.

Активность протеиназ и их ингибиторов определяли с помощью базовых методик Хватова Т. А., Карягиной И. Ю., Erlanger В. [18–20] (трипсиноподобные протеиназы и их эндогенные ингибиторы), Lenney J. F. [21] (цистеиновые протеиназы и их ингибиторы). В качестве субстрата использовали БАПНА (N- α -бензоил-D,L-аргинин-пара-нитроанилид).

Степень гидратации головного мозга определяли термогравиметрически. Для определения содержания общей воды кусочки ткани помещали на подложку из фольги, массу которой определяли заранее. Образцы ткани взвешивали на аналитических весах и помещали в электронагревательную печь при температуре 90°C на 24 часа. Биологическую ткань высушивали

до постоянной массы, а затем взвешивали повторно. Степень гидратации образца определяли по разнице массы влажной и сухой ткани [22].

Все вмешательства и эвтаназию животных осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986).

Обработку результатов производили методами описательной (медиана, довери-

тельный интервал) и непараметрической (критерий Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни, поправка Бонферрони) статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В течение эксперимента животные опытных групп стабильно потребляли раствор этанола в дозе более 5 г/кг массы тела, что может свидетельствовать о развитии физической зависимости (рисунки 1, 2).

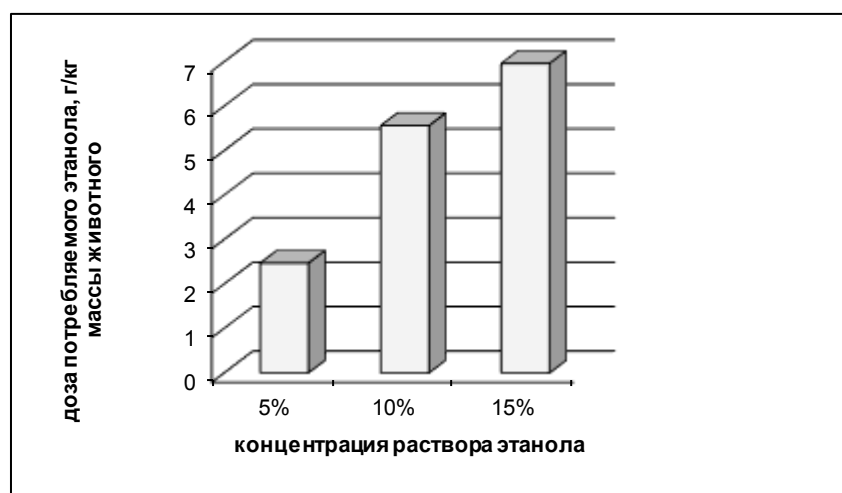


Рисунок 1 – Доза этанола (г/кг), потребленного экспериментальными животными при предоставлении растворов 5%, 10% и 15% концентрации (в первые 3 недели эксперимента)

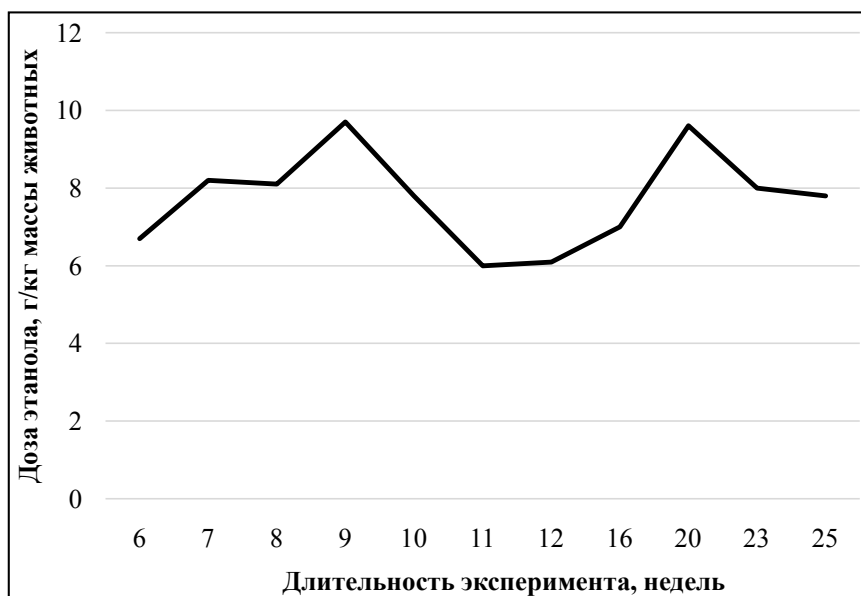


Рисунок 2 – Доза этанола (г/кг), потребленного экспериментальными животными при предоставлении раствора 15% концентрации

Протеолиз в ткани головного мозга крыс. Исследования показали, что через 1 сутки после отмены этанола активность трипсиноподобных протеиназ в ткани больших полушарий головного мозга крыс была увеличена в сравнении с контрольной группой на 94,59% ($p=0,0042$), тогда как активность их эндогенных ингибиторов была снижена через 1 сутки на 20,55% ($p=0,0027$), через 3 суток – на 23,32% ($p=0,0042$) и на 25,69% ($p=0,0027$) через 7 суток. Активность цистеиновых протеиназ увеличивалась на 72,34% ($p=0,0042$) через 3 суток, тогда как активность их эндогенных ингибиторов в ткани больших полушарий головного мозга крыс не изменялась ($p=0,2546$) (таблица 1). Таким образом, хроническая алкогольная интоксикация приводит к активации протеолиза и снижению активности эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ, что может быть одним из факторов повреждения ЦНС.

Применение этилметилгидроксипиридина сукцината и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата способствовало нормализации активности трипсиноподобных протеиназ во все изучаемые периоды. Этилметилгидроксипиридина сукцинат оказывал нормализующее воздействие также и на активность ингибиторов трипсиноподобных протеиназ. Морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетат содействовал установлению активности эндогенных ингибиторов трипсиноподобных протеиназ на уровне контроля через 7 суток.

Лекарственное средство этилметилгидроксипиридина сукцинат восстанавливало активность цистеиновых протеиназ до уровня контроля через 7 суток, тогда как при использовании морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата данный показатель соответствовал контролю через 3 суток. При этом активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ не отличалась от контроля во все изучаемые периоды.

Нормализующее действие антиоксидантов этилметилгидроксипиридина сукцината и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата на протеолиз, видимо, является опосредованным и может быть связано с их способностью ингибировать процессы перекисного

окисления липидов и тем самым предотвращать модификацию молекул белков и сохранять целостность биологических мембран, предупреждая неконтролируемое высвобождение протеиназ из лизосом.

Степень гидратации головного мозга крыс. Степень гидратации является показателем изменений гомеостаза при воздействии различных неблагоприятных факторов, к которым может быть отнесено и хроническое воздействие этанола. Результаты проведенных исследований показали, что содержание воды в больших полушариях головного мозга животных, не подвергавшихся алкоголизации, составило 76,34%, тогда как при хронической алкогольной интоксикации происходило увеличение степени гидратации до 80,29%. Так, при хронической алкогольной интоксикации содержание воды в больших полушариях головного мозга увеличивалось на 5,17% по сравнению с контролем ($p=0,0036$). На фоне введения этилметилгидроксипиридина сукцината степень гидратации была на уровне контроля 78,62%, $p=0,051$. Использование морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетата способствовало нормализации степени гидратации больших полушарий головного мозга до контрольного уровня (76,47%) уже через 1 сутки, $p=0,3481$ (рисунк 3).

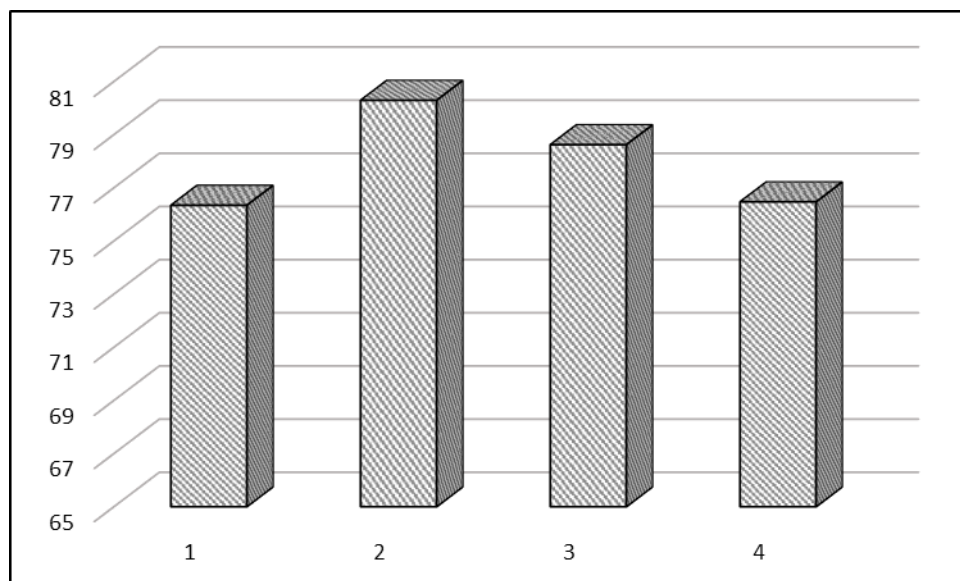
Нормализующее действие антиоксидантов на степень гидратации больших полушарий головного мозга крыс, возможно, может быть связано с тем, что данные лекарственные средства препятствуют образованию активных форм кислорода, а также снижают явления некомпенсированного ацидоза и его прооксидантного действия, способствуют сохранению структурно-функциональной целостности биологических мембран и восстановлению нормального функционирования ионных каналов, рецепторов, мембранно-связанных ферментов.

Таким образом, антиоксиданты этилметилгидроксипиридина сукцинат и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазалил-5-тиоацетат способствуют нормализации протеолиза и степени гидратации в ткани головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации.

Таблица 1 – Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината и морфолиний 3-метил-1,2,4,-триазолил-5-тиоацетата на протеолиз в ткани больших полушарий головного мозга крыс после хронической алкогольной интоксикации

Показатель	Контрольная группа (n=7)	1 сутки после отмены этанола (n=6)	1 сутки после отмены этанола+ этилметилгидроксипиридина сукцинат (n=6)	1 сутки после отмены морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат (n=6)	3 суток после отмены этанола (n=6)	3 суток после отмены этанола+ этилметилгидроксипиридина сукцинат (n=6)	3 суток после отмены этанола+ морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат (n=6)	7 суток после отмены этанола (n=6)	7 суток после отмены этанола+ этилметилгидроксипиридина сукцинат (n=6)	7 суток после отмены этанола+ морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат (n=6)
Активность трипсиноподобных протеиназ, нмоль/ч·мг белка	50,604 (42,013–68,243)	98,472*	71,833 (50,423–85,352)	62,151 (50,067–73,5499)	56,925 (40,362–87,339)	55,585 (35,210–86,919)	72,636 (66,012–81,261)	44,245 (38,607–55,843)	40,945 (27,839–56,911)	63,544 (47,222–78,437)
Активность эндогенных ингибиторов	0,488	0,388*	0,425	0,427	0,374*	0,395	0,569*	0,363*	0,439	0,547
трипсиноподобных протеиназ, нмоль/с·мг белка	(0,429–0,508)	(0,352–0,403)	(0,375–0,459)	(0,394–0,498)	(0,353–0,401)	(0,346–0,438)	(0,519–0,637)	(0,343–0,392)	(0,374–0,486)	(0,495–0,592)
Активность цистеиновых протеиназ, нмоль/ч·мг белка	18,737 (14,844–21,822)	31,395 (21,482–38,951)	37,093* (23,894–58,540)	42,787* (27,829–53,317)	32,293* (22,969–46,032)	32,087* (26,140–49,384)	19,208 (3,314–61,188)	22,773 (6,240–57,180)	22,751 (9,667–43,000)	29,863 (16,632–38,844)
Активность эндогенных ингибиторов	20,736	19,391	31,816	25,696	15,557	26,998	22,770	24,335	25,426	36,937
цистеиновых протеиназ, нмоль/ч·мг белка	(15,545–29,109)	(9,290–45,069)	(28,767–34,594)	(20,682–30,096)	(7,589–28,176)	(17,210–36,776)	(12,552–34,892)	(17,804–31,662)	(16,023–37,075)	(21,642–42,898)

Примечания: 1. Данные представлены в виде медианы, (-95% – +95%) – доверительный интервал. 2. * – статистически значимые различия показателей по отношению к контролю.



1 – контрольная группа животных; 2 – группа животных, которым предоставляли раствор этанола; 3 – группа алкоголизованных животных, которым вводили этилметилгидроксипиридина сукцинат; 4 – группа алкоголизованных животных, которым вводили морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат.

Рисунок 3 – Содержание воды (в %) в ткани больших полушарий головного мозга крыс

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При хронической алкогольной интоксикации длительностью 29 недель наблюдается нарушение протеиназо-ингибиторного баланса и увеличение степени гидратации в больших полушариях головного мозга крыс.

2. Лекарственные средства этилметилгидроксипиридина сукцинат и морфолиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат способствуют нормализации протеолиза и степени гидратации в больших полушариях головного мозга крыс при хронической интоксикации этанолом.

SUMMARY

O. A. Khodos

POSSIBILITIES OF
ETHYLMETHYLHYDROXYPYRIDINE
SUCCINATE AND MORPHOLINES
3-METHYL-1,2,4,-TRIAZOLIL-
5-THIOACETATE USAGE FOR
CORRECTION OF CHRONIC ALCOHOL
INTOXICATION CONSEQUENCES

The effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate and 3-methyl-1,2,4,-triazolil-5-thioacetate morpholines on proteolysis and hydration degree of the brain tissue in rats at chronic alcohol intoxication has been studied. The activity of proteolysis has been studied by the spec-

trophotometric method. Hydration degree of the brain has been studied thermogravimetrically. Experimental model of chronic alcohol intoxication suggested allocation of animals' free access to 15% ethanol solution during 29 weeks. The rats were divided by the degree of preference to ethanol, only rats predisposed to ethanol consumption were used in the experiment. It has been stated that chronic alcohol intoxication leads to disorders of the proteinase-inhibitory balance in the central nervous system and also to the increase of hydration degree in the large cerebral hemispheres. Ethylmethylhydroxypyridine succinate and 3-methyl-1,2,4,-triazolil-5-thioacetate morpholine drugs contribute to normalizing of proteolysis and hydration degree in large cerebral hemispheres at chronic intoxication with ethanol.

Keywords: ethanol, ethylmethylhydroxypyridine succinate, morpholines 3-methyl-1,2,4,-triazolil-5-thioacetate, proteolysis, inhibitors, hydration degree, brain.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров, А. А. Выявление расстройств, вызванных употреблением алкоголя, в общемедицинской практике / А. А. Александров // Медицина. – 2007. – № 1. – С. 12–15.

2. Жарко, В. И. Состояние здоровья населения Республики Беларусь и стратегия

развития здравоохранения / В. И. Жарко, В. З. Черепков, А. К. Цыбин // Здравоохранение. – 2007. – № 1. – С. 4–13.

3. Funk, D. Influence of stressors on the rewarding effects of alcohol in Wistar rats: studies with alcohol deprivation and place conditioning / D. Funk, S. Vohra, A. D. Le // Psychopharmacology. – 2004. – № 176. – P. 82–87.

4. Рен, Н. Потребление алкоголя в европейском регионе – тенденции и модели / Н. Рен // Вопросы наркологии Казахстана. – 2002. – Т. 2, № 1. – С. 57–67.

5. Kovacic, P. Role of diacetyl metabolite in alcohol toxicity and addiction via electron transfer and oxidative stress / P. Kovacic, A. L. Cooksy // Arch Toxicol. – 2005. – № 79. – P. 123–128.

6. Hendriks, H.F.J. Alcohol / H.F.J. Hendriks, A. van Tol. – Netherlands.: Springer, 2005. – 361 p.

7. Андреева, Н. Н. Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии / Н. Н. Андреева // Медицинский альманах. – 2009. – №4. – С. 193–197.

8. Новиков, В. Е. Фармакология производных 3-оксипиридина / В. Е. Новиков, С. О. Лосенкова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2004. – Т. 3. – № 1. – С. 2–14.

9. Сравнительная характеристика хондропротекторных свойств водорастворимых антиоксидантов мексидол и ТС-13 / О. А. Попова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10. – С. 119–124.

10. Влияние пентоксифиллина и мексидола на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему у больных мочекаменной болезнью / П. В. Глыбочко [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 5. – № 4. – С. 505–507.

11. Пашкевич, И. В. Динамика показателей перекисного окисления липидов в сыворотке крови под влиянием производных 3-оксипиридина при индуцированных и перевиваемых неоплазиях / И. В. Пашкевич, Е. О. Букаева, Н. А. Плотнокова // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 3. – С. 110–112.

12. Тарасова, Е. Ю. Теоретическое обоснование применения антиоксиданта «Мексидол» в качестве средства лечения микотоксикоза / Е. Ю. Тарасова, В. П. Коростелева, Т. А. Ямашев // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – № 2. – С. 215–216.

13. Тиотриазолин в комплексной терапии пациентов с острым коронарным син-

дромом / Е. В. Ковш [и др.] // Здравоохранение. – 2010. – № 3. – С. 65–67.

14. Тиотриазолин в терапии ишемической болезни сердца / В. В. Дунаев [и др.] // Рецепт. – 2007. – № 4. – С. 81–83.

15. Сравнительная характеристика кратковременного и длительного воздействия этанола на состояние организма крыс / А. А. Капля [и др.] // Укр. біохім. журн. – 2005. – Т. 77. – № 6. – С. 73–78.

16. Буров, Ю. В. Нейрохимия и фармакология алкоголизма / Ю. В. Буров, Н.Н. Ведерникова. – М.: Медицина, 1985. – 240 с.

17. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте: метод. рекомендации / К. В. Шельгин [и др.] – Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 2002. – 18 с.

18. Карягина, И. Ю. Использование метода комплексного определения активности трипсиноподобных протеиназ, α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в гастроэнтерологической клинике / И. Ю. Карягина, Р. А. Зарембский, М. Д. Балябина // Лабораторное дело. – 1990. – №2. – С. 10–13.

19. Хватов, В. Б. Ускоренный метод определения основных ингибиторов протеиназ в плазме крови человека: метод. рекомендации / В. Б. Хватов, Т. А. Белова. – М., 1981. – 27 с.

20. Erlanger, B. F. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / B. F. Erlanger, N. Kokowsky, M. Cohen // Arc. Biochem. Biophys. – 1961. – Vol. 95, № 2. – P. 271–278.

21. Lenney, J. F. Thermostable endogenous inhibitors of cathepsins B and H / J. F. Lenney // Eur. J. Biochem. – 1979. – Vol. 101, № 1. – P. 153–161.

22. Должанский, О. В. Методика выявления распределения отечной жидкости в головном мозге / О. В. Должанский, Д. П. Калашников, Д. В. Богомолов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2005. – №3. – С. 34–35.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный
ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
кафедра органической химии,
тел. раб.: 8 (0212) 64-81-46,
e-mail: Olga.kh@tut.by,
Ходос О.А.

Поступила 22.09.2017 г.